



**University of
Zurich**^{UZH}

**Zurich Open Repository and
Archive**

University of Zurich
University Library
Strickhofstrasse 39
CH-8057 Zurich
www.zora.uzh.ch

Year: 2011

**Entwicklung einer in vitro-Methode zur Vorverdauung von stärkehaltigen
Futtermitteln für eine anschliessende Fermentation im Caesitec**

Fechner, G ; Wichert, Brigitta ; Zeyner, A ; Suter, D ; Liesegang, Annette

Posted at the Zurich Open Repository and Archive, University of Zurich

ZORA URL: <https://doi.org/10.5167/uzh-58457>

Book Section

Accepted Version

Originally published at:

Fechner, G; Wichert, Brigitta; Zeyner, A; Suter, D; Liesegang, Annette (2011). Entwicklung einer in vitro-Methode zur Vorverdauung von stärkehaltigen Futtermitteln für eine anschliessende Fermentation im Caesitec. In: Kreuzer, Michael; Lanzini, T; Wanner, M; Bruckmaier, R; Guidon, D. Zukunftsträchtige Futtermittel und Zusatzstoffe: Tagungsbericht, 5. Mai 2011. Zürich: ETH Zürich, Institut für Agrarwissenschaften, 118-121.

Entwicklung einer in vitro-Methode zur Vorverdauung von stärkehaltigen Futtermitteln für eine anschliessende Fermentation im Caesitec

G. Fechner¹, B. Wichert¹, A. Zeyner², D. Suter³, A. Liesegang¹

1Institut für Tierernährung der Universität Zürich,

2Institut für Nutztierwissenschaften und Technologie, Ernährungsphysiologie und Tierernährung, Universität Rostock, Deutschland,

3Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrarökologie und Landbau, Reckenholz

Kontakt: Gudrun Fechner fechner@vetphys.uzh.ch

Einleitung

Die vermehrte Aufnahme von Kohlehydraten wie Stärke und Fruktan verursacht eine Azidose im Blinddarm, welche mit unterschiedlichen pathophysiologischen Bildern wie Koliken und Hufrehe einhergeht. In der beschriebenen Studie soll die unterschiedliche Wirkung verschiedener Grünfütter mit unterschiedlichen Gehalten an Speicherkohlehydraten und Rohprotein auf das Milieu des Caecums untersucht werden.

Vosmer et al. (2010) untersuchten die Fermentation verschiedener Grünfütter im in vitro System, Caesitec. Nun soll diese Arbeit dahingehend ergänzt werden, dass der Fermentation im Caesitec eine Vorverdauung vorausgeht. Bei den Grünfüttersorten handelt es sich um Rohrschwengel (*Festuca arudinaccaea*) und Deutsches Weidelgras (Englisches Raigras; *Lolium perenne*) als Vertreter der Süßgräser, des weiteren Luzerne (*Medicago sativa* L. aus der Gruppe der Familie der Hülsenfrüchte), dessen Bedeutung als Pferdefuttermittel in letzter Zeit stark zunimmt (relativ hoher Energiegehalt bei vernachlässigbarer Menge an Speicherkohlehydraten wie Fruktan) und Weissklee (*Trifolium repens* L. aus der Familie der Leguminosen), außerdem je eine Saatmischung für eine Pferde- und für eine Rinderweide.

Durch eine Simulierung der Verdauung durch körpereigene Enzyme des Dünndarms werden die Futtermittel dem Caesitec in aufgeschlossener Form zugänglich gemacht. Hierbei liegt das Augenmerk auf der Verdauung der Stärke und anderer Zucker, die physiologisch im Dünndarm durch Amylase verdaut werden. Zu beachten ist hierbei, dass das Speicherkohlehydrat Stärke zerlegt wird, das Speicherkohlehydrat Fruktan dagegen nicht von körpereigenen Enzymen wie

Amylase angegriffen wird und damit dem Caesitec unverändert zur Fermentation zur Verfügung steht.

Amylase zerlegt Polysaccharide mit α -1,4-glykosidischer Verknüpfung in das Monosaccharid Glukose, welches zu 70-95% absorbiert wird, bevor der Chymus das Caecum erreicht.

Methoden

Es wurden zur Entwicklung der Methode zwei stärkehaltige Futtermittel (Maisstärke und Haferflocken) herangezogen.

Bei der Entwicklung der Vorverdauung wurden zunächst die Auswirkungen einer Vorbehandlung mit Pepsin/Salzsäure, wie diese bei Bauer et al. (2001) beschrieben ist, getestet. Die Inkubation verlief über eine Stunde bei einer konstanten Temperatur von 40°C und einen pH von 1. Anschliessend folgte eine Neutralisierung mit NaHCO₃. Durch diese Vorbehandlung allein wurde keinerlei Glukose freigesetzt. Anschließend wurde den Futtermitteln in einem Ansatz (A) thermostabile α - Amylase (Termamyl) und Pankreatin, in einem zweiten Ansatz (B) nur Amylase und in einem dritten Ansatz (C) α - Amylase (Termamyl), Pankreatin und Amyloglykosidase zugesetzt. Die Inkubation verlief bei einem konstanten pH von 7 und einer Temperatur von 40°C über unterschiedliche Zeiträume im Bereich von 90 Minuten bis 5 Stunden. Anschliessend wurde die Reaktion durch ein Salzsäure/Essigsäure-Gemisch gestoppt (Bauer et al., 2001). Als Referenzwerte für die Enzymaktivität wurden Werte von Kienzle et al. (1994) sowie Bauer et al. (2001) herangezogen.

Die Glukose wurde im Überstand mit dem Reagenzsystem Diatools Gluc. Hk. enzymatisch durch Reaktion mit Hexokinase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase und anschliessend photometrisch bestimmt.

Die Versuche im Ansatz (A) und (B) führten zu einer Abänderung der Methodik, da bei einer Inkubationszeit von 1 ½ Stunden, die sich an der Passagezeit im Dünndarm orientierte, nicht die nötige Effektivität der Glukose-Freisetzung erbracht wurde. Erst bei Ansatz (C) und einer verlängerten Inkubationszeit konnten physiologische Werte von mindestens 70% der Stärke erreicht werden.

Um Probleme im Hinblick auf die Repräsentativität der in vitro-Verdauung in vergleichbaren Studien zu vermeiden, wird auf Auswaschungsverfahren bewusst verzichtet. Stattdessen ist geplant, auf eine Osmosetechnik zurückzugreifen, um kleinmolekulare Strukturen, die in vivo absorbiert würden, abzutrennen dabei aber grossmolekulare wasserlösliche Strukturen wie die Fruktane im Chymus zu erhalten.

Da ein gewisser Glukoseanteil im Caecumchymus zum einen physiologisch ist und zum anderen eine wichtige Energiequelle für die Bakterienflora darstellt, soll die Entfernung der Glukose nicht

vollständig erfolgen und der Unterschied in der Fermentationskinetik bei unterschiedlichen Glukosekonzentrationen evaluiert werden.

Im Caesitec werden in der Folge während des Tages 1, 2, und 6 Stunden nach der Zugabe des vorverdauten Materials Proben entnommen. Vor der Neubestückung werden der pH, die Keimzahl, die Ammoniakkonzentration und die entstandenen Gas- und Flüssigkeitsmengen gemessen.

Vorläufige Ergebnisse und Diskussion und weitere geplante Untersuchungen

Einwirkung der Pepsin / Salzsäure- Vorbehandlung:

Bei der Inkubation von Mais hatte die Vorbehandlung mit Pepsin /Salzsäure keinen Einfluss auf den Glukosegehalt im Anschluss an die Inkubation. Bei der Durchführung des Versuchs mit Hafer sowie einer leguminosenreichen Grasmischung zeigte sich dagegen, dass die Vorbehandlung mit Pepsin und Salzsäure einen steigernden Effekt in Bezug auf die Glukosefreisetzung hat.

Es ist zu vermuten, dass die Verfügbarkeit der Stärke durch Aufschluss der ihr assoziierten Proteine erhöht wird, die wiederum aufgrund ihrer zum Teil hydrophoben Eigenschaften die Penetration der Enzyme verhindern können.

Inkubation mit stärke- und eiweisspaltenden Enzymen:

Bezüglich der Notwendigkeit der Inkubationszeit- Verlängerung machten Muir und O`Dea (1993) ähnliche Erfahrungen. Hier wurden bei Proben aus einer Ileostomie beim Menschen (Zersetzung der Stärke von etwa 95%) vergleichbare Werte im in-vitro-Versuch nach einer Inkubationszeit von 15h erreicht. Eine Erklärung findet sich bei Coenen et al. (2006). Durch Messung von Atemgasen konnte eine mikrobielle Fermentation bereits präcaecal nachgewiesen werden. Es werden also effektiv mehr Zucker umgesetzt als allein durch die Verdauung von körpereigenen Enzymen.

Ausblick auf die noch ausstehende Fermentation im Caesitec:

Es sei vor allem Augenmerk auf die Futtermittel zu legen, die aufgrund eines in Relation hohen Stärke- oder Proteingehaltes Unterschiede im Fermentationsverhalten im Vergleich zu den Arbeiten von Vosmer et al. (2010) erwarten lassen.

Im Vergleich zu der Studie von Vosmer et al. (2010) liegen im Chymus geringere Mengen an Zucker und Protein, sowie derselbe Anteil an Fruktanen vor.

Die Studie wird zeigen, inwieweit sich diese Voraussetzungen auf die Fermentationskinetik der Gräser und Leguminosen im Caesitec auswirken. Durch einen geringeren Anteil an Kohlehydraten wird vermutlich die Gasbildung zurückgehen und auch der Ammoniakanteil könnte aufgrund eines geringeren Proteingehaltes zurückgehen.

Die Fruktan- und Rohproteingehalte der Ursprungsfuttermittel wurden bei Vosmer et al. (2010) bestimmt. Die Saatmischung für Pferdeweiden enthielt die höchsten Fruktanwerte, die Luzerne erwartungsgemäß die höchsten Rohproteingehalte und keine Fruktane.

Da aber bei der Fermentation im Caesitec selbst bei den vergleichsweise höheren Fruktangehalten kein dauerhaftes Entgleisen des Dickdarmmilieus festgestellt werden konnte, sind diesbezüglich im laufenden Versuch keine Verschiebungen in Richtung eines pathophysiologischen Zustandes zu erwarten.

Literatur:

- Babinszky, van der Meer, Boer, Hartog (1990): An in vitro method for prediction of the digestible crude protein content in pig feeds; *J.Sci.Food Agric*; **50**: 2: 173-178
- Coenen, Mösseler, Vervuert (2006): Fermentative gasses in breath indicate that inulin and starch start to be degraded by microbial fermentation in the stomach and small intestine of the horse in contrast to pectin and cellulose. *J. Nutr.* **136**: 2108S- 2110S
- Gray, Gary M. (1992): Starch digestion and absorption in non ruminants; *J. Nutr.* January **122**: 1 172-177
- Muir and O'Dea; (1993); Validation of an in vitro assay for predicting the amount of starch that escapes digestion in the small intestine. *Am J Clin Nutr*; **57**: 540- 6
- Vosmer, J, B. Wichert, A. Zeyner, D. Suter, A. Liesegang (2010): Die Fermentation von verschiedenen Grünfuttern im semikontinuierlichen Fermentationssystem Caesitec; *Schweizer Archiv für Tierheilkunde*; Band 152, S. 204